

⑫ 公表特許公報(A)

平4-507106

⑬ 公表 平成4年(1992)12月10日

⑭ Int. Cl.⁵
A 61 K 39/385
39/00
47/04

識別記号 庁内整理番号
G 8413-4C
E 8413-4C
E 7329-4C

審査請求 未請求
予備審査請求 未請求

部門(区分) 3(2)

(全5頁)

⑮ 発明の名称 ヒドロキシアパタイト-抗原結合体及びポリ-IG免疫応答を生成する方法

⑯ 特 願 平3-507783

⑰ 翻訳文提出日 平3(1991)12月16日

⑱ 出 願 平3(1991)4月16日

⑲ 国際出願 PCT/US91/02599

⑳ 国際公開番号 WO91/16072

㉑ 国際公開日 平3(1991)10月31日

優先権主張 ㉒ 1990年4月16日 ㉓ 米国(US) ㉔ 510,154

㉕ 発 明 者 クレーエンブル, ジヤーンビ スイス連邦セアシュ-1812 リヴァクス, スー・ラ・クロワ (番
エール 地なし)

㉖ 出 願 人 プレジデント・アンド・フェロ アメリカ合衆国マサチューセッツ州02138, ケンブリッジ, クイン
ーズ・オブ・ハーバード・カレ シー・ストリート 17
ツジ

㉗ 代 理 人 弁理士 湯浅 恭三 外5名

㉘ 指 定 国 AT(広域特許), AU, BE(広域特許), BF(広域特許), BG, BJ(広域特許), BR, CA, CF(広域特許),
CG(広域特許), CH(広域特許), CM(広域特許), DE(広域特許), DK(広域特許), ES(広域特許),
FI, FR(広域特許), GA(広域特許), GB(広域特許), GR(広域特許), HU, IT(広域特許), JP, K
P, KR, LU(広域特許), ML(広域特許), MR(広域特許), NL(広域特許), NO, RO, SE(広域特許),
SN(広域特許), SU, TD(広域特許), TG(広域特許)

最終頁に続く

請求の範囲

1. 活性成分と水酸化リン酸カルシウムとが組み合わされた複合体を、哺乳動物の粘膜表面に投与することからなる、活性成分を哺乳動物に投与する方法。
2. 水酸化リン酸カルシウムが上皮細胞を通過する輸送に適した粒子形で存在する請求の範囲第1項記載の方法。
3. 複合体が、抗原または抗原混合物と水酸化リン酸カルシウムとが組合わされた免疫原である請求の範囲第1項記載の方法。
4. 複合体投与によって、抗原に感作された哺乳動物中においてIgA-産出性リンパ芽球が生産される請求の範囲第3項記載の方法。
5. 免疫原投与によって哺乳動物を予防接種し、粘膜を通して導入された、抗原を与える物質に対して哺乳動物を保護する請求の範囲第3項記載の方法。
6. 抗原が、外的に入手しうる病原体または精子の決定基からなる請求の範囲第3、4または5項記載の方法。
7. 抗原がウィルスコートタンパク質、ウィルスエンベロープタンパク質、細胞表面リポ多糖または細胞表面タンパク質である請求の範囲第3、4または5項記載の方法。
8. 疫原を経口、経膣、経鼻、経直腸、経眼または中耳に投与する請求の範囲第3、4または5項記載の方法。
9. 哺乳動物から複数のリンパ芽球を分離し、これを不死のものとし、不死リンパ芽球の中から、上記抗原と特異的に結合しうるIgAを分泌する少なくとも1個の不死リンパ芽球を同定することを更に含む請求の範囲第4項記載の方法。
10. 活性成分と、活性成分と共に上皮細胞を通過して輸送されるのに適したサイズの水酸化リン酸カルシウム微粒子とを組み合わせてなる組成物。
11. 複合体が哺乳動物の粘膜免疫応答を高めるための免疫原であって、活性成分が、免疫応答が所望される抗原決定基からなる請求の範囲第10項記載の組成物。
12. 抗原決定基が外的に入手しうる病原体または精子の決定基である請求の範囲第11項記載の免疫原。

13. 抗原決定基がウィルスコートタンパク質、ウィルスエンベロープタンパク質、細胞表面リポ多糖または細胞表面タンパク質の決定基である請求の範囲第12項記載の免疫原。

明細書

ヒドロキシアパタイト-抗原結合体及び
ポリ-Ig免疫応答を生成する方法

[発明の背景]

本発明は米国政府からの部分的資金援助によりなされ、米国政府は本発明に一定の権利を有する。

本発明は受動粘膜免疫保護、及びポリ-Ig免疫試験並びにその手法に関する。ポリ-Igの語は抗体、即ちIgA及びIgMの重合体クラスを表すのに使用する。IgM抗体は一般に免疫応答の初期段階で産出され、保護的粘膜免疫においては重要な要因でない。従って、本発明は一般的には重合体Ig抗体に関し、本発明のあらゆる面における通常の好ましい抗体はIgAクラス抗体であり、この抗体は通常二量体で、時にはより大きなIgA重合体として分泌される。

多くの病原性バクテリアやウィルスは胃腸管、呼吸器または生殖系の細胞内層（上皮細胞）を通過して体内にまず最初入る。特定の抗体クラスであるIgA抗体はこの表面を保護する。IgA抗体は上皮細胞表面下の組織に位置する細胞によって産出される二量体または重合体分子である。IgA抗体は上皮細胞によって粘膜分泌まで運ばれ、そこでまだ体内に入っていない病原体を阻害または覆ってしまい、病原体が上皮細胞と接触したり付着したりするのを防ぐ。かくしてIgA抗体は体の外側にある病原体に作用し、これが上皮細胞表面を通過して体内に侵入するのを防ぐことにより保護する。

自然に起こるIgA応答は粘膜表面への抗原の接触により引き起こされる。抗原は特異的サンプリング部位（マイクロフォールドまたはM細胞と呼ばれる）を通過して体内に入り、このサンプリング部位は、粘膜免疫系細胞の特定の組織化されたコレクションを含む粘膜内層領域への経上皮抗原輸送に影響を及ぼす。より詳しくは、図1に示すように、腔腔1にある抗原A（黒丸で示したものが）が部位2におけるM細胞の腔腔表面に結合する。抗原は3においてインターナリゼーションされ、トランスサイトーシスされて、リンパ球L（B及びT細胞）や、マクロファージ細胞（M）のような抗原-処理/提供細胞を含む上皮細胞ポケット4中に放

ら保護する試みでは、モノクローナルIgA抗体を産出し、呼吸粘膜表面に直接適用した [Mazanecら、*J. Virol.*, **61**:2624-2625 (1987)]。

能動免疫は完全な（死亡）バクテリアまたはウィルスを粘膜表面でチャレンジすることを含む。ある種の病原体にこの方法を用いることに関連する危険性を避けるために、病原体の免疫原表面成分のような成分抗原を粘膜表面で用いる。また、抗原を大きな分子と結合させることもある。例えばコレラ毒素Bサブユニットを抗原と結合する。コレラ毒素Bサブユニットと結合した連鎖球菌抗原の経口投与を報告するCzerkinskyら、*Infection and Immunity*, **57**:1072-1077 (1989) を参照されたい。生物分解性の中心体 (microsphere) も抗原担体として用いられた。例えば、Eldridgeら、*Curr. Top. Microbial Immunol.*, **146**:59以降 (1989) は抗原の生物分解性中心体への取り込みを報告する。乾燥タンパク質抗原をポリマーマトリックスに化学結合させることなく分散させる。

[発明の開示]

我々は水酸化リン酸カルシウム (hydroxylated calcium phosphate: HCP) 粒子が粘膜表面を通過して行う治療に特に有用な担体であることを発見した。HCPと治療的に活性な成分（例えば抗原または医薬品のような生物学的に活性な物質）との結合体は上皮細胞を通して輸送され、そこで所望の治療的応答、例えばポリIg免疫応答の増強をもたらす。

本発明は最も一般的な形では、水酸化リン酸カルシウムと活性成分との複合体を哺乳動物の粘膜表面に適用することにより、哺乳動物に活性成分を投与することと特徴とする。

本発明に特有の実施態様は一般的に、抗原感作IgA一産出性リンパ芽球を哺乳動物に産出させるための方法と特徴とする。この方法においては、抗原または抗原混合物と水酸化リン酸カルシウム (HCP) 粒子とからなる免疫原を哺乳動物の粘膜表面に投与する。本発明のこの第1の面における好ましい態様では、抗

出される。

自然に免疫された宿主中におけるIgA抗体は、上皮細胞及び分泌細胞の基底（内側）表面上にある特異的レセプター（ポリ-Igレセプターと呼ばれる）と結合することによって、呼吸系、消化器系、生殖器及び乳腺を通じての分泌へと輸送される。The Mammary Gland, Neville and Daniel Eds., Plenum Publishing, Cambridge (1987) に記載のSolari and Kraehenbuhl, "Receptor-Mediated Transepithelial Transport of Polymeric Immunoglobulins", p. 269-298; Mestecky, *J. Clin. Immunol.*, **7**:265-276 (1987) を参照されたい。レセプター-IgA複合体はこれらの細胞を通過して輸送され、腔腔（外側）細胞表面上にエキソサイトーシスされ、ここでレセプターが酵素的に開裂して、分泌成分 (SC) と呼ばれるレセプター断片と共に、IgAが分泌される。Mostovら、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**:7257-7261 (1980); Solari, R and Kraehenbuhl, *J. Biol. Chem.*, **256**:12490-12495 (1981) 参照。分泌成分はタンパク質分解を減少することが報告されている [Lindh, J., *J. Immunol.*, **114**:284-286 (1975); Brown, Neucomb, Ishizuka, *J. Clin. Invest.*, **49**:1374 (1974)]

一般的に、抗原注入を含む現存の免疫方法は、全身を循環して、病原体が体内に入った後にこれを中和するようなIgGクラスの抗体産出を引き起こす。抗原の注入は一般に本質的なIgA応答を引き起こさない。

粘膜開口におけるIgA産出の利点を保つための各種試みには、免疫された哺乳動物の能動保護のための、または免疫された哺乳動物の粘膜分泌を用いる異種動物間の受動保護のための経口免疫応答が含まれる [Glassら、*New Eng. J. Med.*, **308**:1392 (1983); Fubaraら、*J. Immunol.*, **111**(2):395-403 (1973)]。病原体侵入か

原因作リンパ芽球が回復して不死となり、IgA産出性ハイブリドーマを生産するようになる。

本発明に特有の第2の実施態様は、上記の免疫原を哺乳動物の粘膜表面に投与することからなる、哺乳動物（特にヒト）を予防接種する方法と特徴とする。

他の実施態様は、粘膜を通しての治療物（例えば医薬品）の配達と特徴とする。

本発明はまた、活性成分と上皮細胞を通過する輸送のために適したサイズの水酸化リン酸カルシウム粒子とを含む組成物を特徴とする。

本発明のいずれの好ましい実施態様においても、水酸化リン酸カルシウムは上皮細胞を通過する輸送に適した微粒子である。また好ましくは、抗原はウィルスコート、エンベロープタンパク質のような、病原体または精子の外的に入手可能な抗原決定基、リポ多糖、或いは細胞表面のタンパク質からなる。HCPの一つの形はヒドロキシアパタイト (HA) であり、これは以下に記載する市販の結晶水酸化リン酸カルシウムである。

本発明の活性成分を投与する好ましい方法は、経口、経腔、経鼻、経直腸、経眼または中耳への投与である。経口投与は腸管粘膜を含む他のG. I. 粘膜への配達を可能にする。

本発明は粘膜に付着し、その生物学的効果、例えば粘膜免疫系への提供を行うために上皮細胞開口を効果的に通過しうる効率的な多面複合体を提供する。活性成分、特にタンパク質のHCPへの吸着は比較的簡単、迅速かつ安価で本発明を経済的に容易なものとする。さらに、HCPはタンパク質や他の抗原を含む、目的の抗原に対する親和性が一般に高く、このため本発明は適用範囲が広い。HAが骨の必須成分であり、また全身の免疫系が正常な骨の再吸収（これは健康な個体で顕微鏡的レベルで常に起こる過程である）中にHAと日常的に出会うという事実からも明らかのように、HCPは一般に非毒性である。従って、純粋HAは宿主免疫応答を引き起こすことなく、恐らくは安全に投与することができ、また抗一価形免疫応答を引き起こすことなく同一のまたは異なる抗原用に賦形剤として繰り返し投与できる。さらにHCP、特にHAはM細胞による経上皮輸送に適したサイズに容易に小さくでき、このような小さいサイズは細胞内皮組織系のマ

クロファージ及び他の細胞による食作用には好適であり、免疫応答を増強する。最後に、本発明によるM細胞取り込み及び輸送は比較的選択性がある。

本発明のその他の特徴及び利点は以下に記載する最良の形態により明らかとなるであろう。

[発明を実施するための最良の形態]

図面

図1はM細胞を通過する抗原のトランスサイトosisを概す図である。

試験

一般に、以下に述べる方法及び材料はIgA保護のための方法の一部として用いることができ、この方法については本出願と同時に出願したNeutra, Kræehenbuhl及びWaltzlinの“合成ポリ-Igレセプター、レセプター-抗体複合体、その製造及び使用”と題する共有特許出願(参照により本明細書に包含される)にさらに詳しく記載されている。特に、本発明の免疫原及び方法は、受動免疫のためのポリIg試験薬を作るために上記参照出願に記載された安定剤タンパク質と共に使用することができる。

本発明の好ましい態様はヒドロキシアパタイト-抗原結合体及びその使用を特徴とする。特定すれば、ヒドロキシアパタイトは結晶性リン酸カルシウムの棒状形、 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ である。これは、その一般的なタンパク質結合能の故にタンパク質分画試薬として用いられているものである。市販のHAは一般に正常な骨組織に存在する無機HAの化学的及び物理的類似体である平板状結晶からなる。粉末の骨に由来する栄養性カルシウム/リン酸補助剤が食用として存在していることを考えると、出発物質が不純物を含んでいない限り、HAを食することは比較的安全である。

市販の高溶解性HA(Calbiochemより入手)は各種のサイズの結晶からなる。製造者から提供されるHA結晶は、上皮細胞を効果的に通過するには全体的に大きすぎる。例えば、長さが1 μm 以上の結晶はM細胞によって取り込まれそうにない。従って、本発明に用いるには、市販のHA結晶を例えば音波処理によって、小さな、比較的均一な結晶性断片に破砕する。

lamblia)、Streptococcus、呼吸シチウムウィルス、ロタウィルス、レオウィルス、ヒト免疫不全ウィルス、ヒトT細胞リンパ腫性ウィルス、タイプI及びII、ポリオウィルス、リノウィルス、インフルエンザウィルス、ヘルペスウィルス、ヒトパピローマウィルス、PneumocystisのようなAIDS 2^o 病原体、及びmoniliaのような酵母菌に対する保護として有用である。本発明はまた呼吸系または消化系粘膜表面と接触するアレルゲンに対する保護としても有用である。さらに腔中で精子と隣接して、これが卵管及び子宮を通過して移動するのを防ぐことにより、避妊剤としても用い得る。

いずれの場合でも、適当な既知の抗原、例えばウィルスコートタンパク質、バクテリア細胞表面タンパク質のような全病原体または外的に提供される抗原、刺毛タンパク質、リポ多糖、ウィルスカプシドまたはエンベロープタンパク質、原虫細胞表面膜成分、精子表面タンパク質、または呼吸アレルゲンを用い得る。Uchidaら、J. Biol. Chem. 248:3838-3844 (1973)に記載の、CRM-197のようなトキシド及び不活性化ジフテリア毒素も用い得る。所望の保護性抗体を分泌するハイブリドーマを産出するために、上記の方法に従って抗原を用いる。一例として、WO88/08437 (参照として本明細書に包含される)は抗-V. choleraeモノクローナルポリ-Ig抗体を生成するのに適したtcpA刺毛タンパク質を開示する。米国特許第4,725,669号は抗-HIVポリ-Igモノクローナル抗体を生成するのに適したHIV (HTLV-III) エンベロープ糖タンパク質を開示する。以下の特許及び特許出願は細菌感染、特にStreptococcus、タイプBによる感染に対する保護に用いる抗原の開示をする：米国特許第4,367,221;4,367,222;4,367,223;4,356,263;4,207,414 (RE31,672)；及びWO 87/06267。

その他の適した抗原はBacterial Vaccines and Local Immunity Proceedings of the Scl

音波処理した結晶はいくつかサイズにバラツキがあるものの、そのサイズは一般に1 μm を超えない。好ましくはHAの実質的部分が約0.01-0.1 μm の断片として存在する。断片度は標準手法を用いて、電子顕微鏡または光散乱により測定できる。

HAは低い、生理的に安全な濃度で、タンパク質と高い結合活性と速度で結合する。結合はカルシウム部分とタンパク質の酸性及びリン酸基との相互作用、並びにリン酸とタンパク質の塩基性基との相互作用によると思われる。高分子量のタンパク質はHAによりしっかりと吸着される傾向があるが、タンパク質の電荷も役割を果たしている。例えば、HA 1gはウシ血清アルブミン約30mgと結合できる。かくして、HAは架橋剤を加えることなく、激しい、変成化条件を用いることなく、しかも貴重な純粋抗原を浪費することなく、希釈溶液中からタンパク質抗原を効果的に捕捉することができる。

用途

HA吸着した抗原はヒトまたは他の哺乳動物の予防接種に用いることができる。本発明は特にシュドモナス・アエルギノサ (Pseudomonas aeruginosa)、ヘモフィルス・インフルエンザ (Hemophilus influenza)、ビブリオ・コレラエ (Vibrio cholerae)、ボルデテラ・ペルツシ (Bordetella pertussis)、コリネバクテリウム・ジフテリアエ (Corynebacterium diphteriae)、大腸菌 (Escherichia coli)、サルモネラ・チフィおよびチフィリウム (Salmonella typhi及びtyphimurium)、クロストリジウム・ペルFRINGEN (Clostridium perfringens) 並びに腸のクロストリジエ (clostridia)、シゲラ・デセンテリエ (Shigella dysenteriae)、シゲラ・フレクスネリ (Shigella flexneri)、ネisseria・ゴノルヘア (Neisseria gonorrhoeae)、トリコモナス (Trichomonas)、エンタメバ・ヒストリチカ (Entamoeba histolytica)、ギアルデア・ランブリア (Giardia

vo International Conf., Siena, Italy 17-19 November 1986に開示されている。HIV抗原に適した特別の試験がSIDS Research and Reference Reagent Program, National Institute of Health, June 1989に開示されている。例えばgp 120がMycroGeneSys, Inc. から販売されている。LDH-C4のような精子細胞表面抗原も公知である。例えばShaha and Taiwar, Vaccine 7:87-100 (1989)；Shahaら, Int. J. Androl. 11:479 (1988)を参照されたい。

本発明を実施するための抗原の選択で特に重要なことは、粘膜保護が体内への侵入を防ぐための架橋を含み、このメカニズムは重合体抗体が病原体を殺したり、または“中和”する必要がないということである。これとは対照的に、全身性(IgG)保護は、これを効果的なものとするには、一般に病原体を中和しなければならない結合を含んでいる。従って、Vibrio choleraeと特異的に結合するモノクローナル抗体の存在から明らかのように、病原体と結合する全てのIgG抗体が保護的であるという訳ではなく、宿主中で病原体がコロニーを作り、成長し、臨床症状をあらわすのを防ぐという意味においては、病原体を中和するものではない。そこで保護性IgA抗体を高めるために用い得る抗原及び決定基の普遍性がとりわけ増す。

特定すれば、HA-吸着抗原は、上記した方法に従って、大量生産用に適当な修飾を施して調製する。HA-吸着抗原または抗原混合物は生理的に受容し得る賦形剤と混合し、例えば口、鼻、直腸及び/または体表のような粘膜表面組織に直接投与するか、あるいは配達する。調製物はエアロゾル、懸濁液、カプセル及び/または座薬で投与する。当業者には公知の技術を用いてかかる賦形剤を製造することは容易である。

用途

本発明はまたIgA-産出性ハイブリドーマの製造にも特に有用である。例えば上記の組成物を粘膜表面に投与することによって哺乳動物をチャレンジし、次

いでリンパ組織に含むバリエル板粘膜または他の粘膜からリンパ球を回収し、次いで公知技術により該リンパ球をミエローマと融合させることによって、かかるハイブリドーマは容易に生産できる。例えば先に引用した共有の、本願と同時出願の米国特許出願第07/510,161号を参照されたい。

以下に実施例を記載するが、これは本発明の範囲を限定するものではない。

実施例 1

PBS 20mlに懸濁したHA (Calbiochem) 2gをMicroson cell disrupter (Heat Systems Ultrasonics, Inc., Farmingdale, NY) の"HIGH"目盛り(140, 80% duty cycle)を用いて、室温で、30分間、プローブソニケーターで音波処理する。電子顕微鏡で測定した音波処理後の平均の結晶サイズは約0.01x0.1μmである。適切な音波処理を分光光度吸収によってモニターする。例えば、音波処理まえの懸濁液2mg/mlの吸収(650nmで読み取り)は0.108 O. D. ユニットであり、上記の結晶サイズの減少後は2.060 O. D. に増加した。

実施例 2

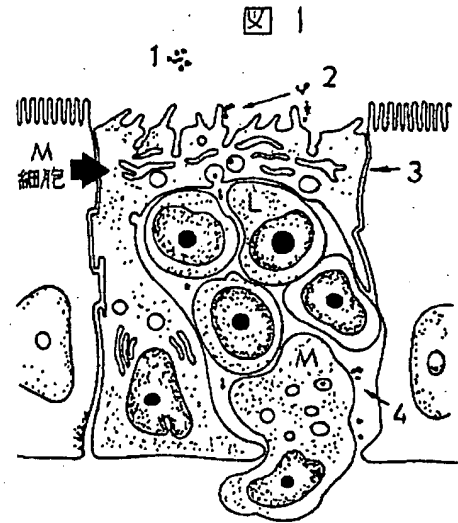
65kD (アルブミン) から450kD (フェリチン) までの各種のサイズのタンパク質で飽和になるまでコートしたこのサイズのHA結晶を、マウス及びウサギの膵臓腔に導入すると、HA結晶は特異的に結合し、バリエル板のM細胞によって輸送された。この方法は粒子状免疫原の形で粘膜免疫系の細胞にタンパク質を効果的に配達する。

25gのマウスを経口予防注射するには、PBS 200μl中の少量のタンパク質(例えば30μg)を、適量の(例えばタンパク質30μgに対してHA1mg)あらかじめ音波処理して洗浄しておいたHAと混合する。混合物を4℃で1時間攪拌し、これをミクロチューブ中で10,000rpm、2分間スピニングすることによって旋剤とする。この旋剤を、胃酸を中和するための緩衝液を含む水200μl中で攪拌、音波処理することにより、再懸濁する。

その他の実施態様は以下の請求の範囲に記載する。

要約書

抗原または抗原混合物と水酸化リン酸カルシウム(ヒドロキシアパタイト)からなる免疫原を哺乳動物の粘膜表面に投与して、抗原感作されたIgA-産生性リンパ芽球を哺乳動物中に生産させる方法。



国際調査報告

1. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC (5): A61K 39/12, 31/06, 39/385, 37/16; ADIN 37/18 US.CI: 424/603, 88, 89; 514/7, 2	
2. FIELD OF SEARCH U.S. CI: 424/603, 88, 89; 514/7, 2	
3. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
A EP. A. 0,175,288 (MCW-RRR, found) 26 March 1986, see abstract.	1-3, 4
A JP. A. 63,196,281 (Rumitama, Plac. 19 August 1988, see abstract.	10-11
A JP. A. 59,101,145 (Rumitama) 11 June 1984, see abstract.	1-13
Y DR. A. 4,722,840 (Valenzuela et al) 02 February 1988, see entire document.	1-11
4. EXAMINATION 17 JUL 1991 ISA/US	

BEST AVAILABLE COPY

第1頁の続き

②発明者 アメロンゲン, ヘレン・エム

アメリカ合衆国マサチューセッツ州02130, ジャマイカ・ブレイ
ン, ロックビュー・ストリート 89, ナンバー 2

③発明者 ニュートラ, マリアン・アール

アメリカ合衆国マサチューセッツ州01770, シェアボーン, プロス
ペクト・ストリート 43⑦出願人 アンステイチュー・シュイス・
ド・ルシエルシュ・エクスペリ
マンタル・シュール・ル・カン
セールスイス連邦セアシュエ1066 エバリンジュ・シュマン・デ・ボヴエ
レス (番地なし)

HYDROXYAPATITE-ANTIGEN CONJUGATES AND METHODS FOR GENERATING A POLY-IG IMMUNE RESPONSE

Publication number: JP4507106T

Publication date: 1992-12-10

Inventor:

Applicant:

Classification:






- international: A61K39/00; A61K9/00; A61K9/51; A61K39/385;
A61K39/39; A61K47/04; A61K47/48; A61K39/00;
A61K9/00; A61K9/51; A61K39/385; A61K39/39;
A61K47/02; A61K47/48; (IPC1-7): A61K39/00;
A61K39/385; A61K47/04

- european: A61K47/48H2; A61K9/51; A61K39/39

Application number: JP19910507783 19910416

Priority number(s): US19900510154 19900416

Also published as:

 WO9116072 (A1)
 EP0477339 (A1)
 US5443832 (A1)
 OA9525 (A)
 EP0477339 (A4)

more >>

[Report a data error here](#)

Abstract not available for JP4507106T

Abstract of corresponding document: **WO9116072**

A method for generating antigen-sensitized Ig-A-producing lymphoblasts in a mammal, using an immunogen comprising an antigen or antigen mixture in association with hydroxylated calcium phosphate (hydroxyapatite) is administered to a mucosal surface of the mammal.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide